

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИАЛУРОНИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ *ENTAMOEBA HISTOLYTICA*

С. Т. Айлярова

Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова,  
кафедра общей биологии с паразитологией имени Е. Н. Павловского,  
Ленинград

Исследована активность гиалуронидазы 10 штаммов *Entamoeba histolytica*, выделенных от больных и носителей. Гиалуронидазная активность штаммов при определении фермента муциновым методом обнаруживается лишь при анализе концентрированных проб. Длительное лабораторное культивирование не приводило к потере, а лишь снижало активность гиалуронидазы. Гиалуронидаза в штаммах *E. histolytica* продуцируется самими амебами, ее образование не зависит от сопутствующей микрофлоры.

В последние годы опубликован ряд исследований о роли гиалуронидазы в механизме проникновения дизентерийных амеб в ткани. Значительный интерес представляет вопрос о наличии гиалуронидазы у различных штаммов *E. histolytica*. Впервые у *E. histolytica* гиалуронидаза была обнаружена в 1947 г. Сченсновичем в культурах, длительное время культивированных в лабораторных условиях.

О наличии гиалуронидазной активности у *E. histolytica* встречаются разноречивые данные. Мизгирева и Глейberman (1963) нашли гиалуронидазу у штаммов *E. histolytica*, выделенных от больных (у 14 больных из 16). В культурах от носителей этот фермент выявлялся значительно реже (у 4 человек из 14). Эти же авторы определили видовой состав микробов, сопровождавших рост амеб в 6 штаммах. Ни один из этих видов гиалуронидазу не образовывал. Мегрейс и Жарамиланта (Maegroith a. Jarumilinta, 1961) обнаружили гиалуронидазу как у живых амеб, так и в экстрактах, полученных их замораживанием и оттаиванием. Однако Де Ламатер и другие (De Lamater and oth., 1954) получили отрицательный результат при исследовании разных штаммов *E. histolytica*, культивированных в аэробных и анаэробных условиях. В культурах, выделенных из абсцессов печени хомяков, гиалуронидаза также не была найдена. Брадин (Bradin, 1953) и Нил (Neal, 1960) также не обнаружили гиалуронидазу у штаммов *E. histolytica*, которые культивировались долгое время в лаборатории. Во всех упомянутых исследованиях активность фермента гиалуронидазы определялась двумя методами — вискозиметрическим и муциновым, чувствительность которых относительно не высока. Это обстоятельство, а также разноречивость литературных данных побудили нас провести специальные исследования.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Нами проведено исследование гиалуронидазы в культурах *E. histolytica* по методике, которую разработал Могилевский (1966) для обнаружения гиалуронидазы в так называемых «негиалуронидазных культурах гемолитических стрептококков».

Были исследованы 10 штаммов *E. histolytica*, выделенных от жителей Ленинграда. Из них 3 штамма получены от больных с диагнозом амебиаз. Штаммы №№ 48, 20 выделены в 1968 г. и штамм № 4155 — в 1963 г., последний культивируется в лабораторных условиях 6 лет. Остальные штаммы *E. histolytica* выделены от здоровых носителей. Все перечисленные штаммы имели различные сроки лабораторного хранения: от 2—3 недель до 6 лет.

Амебы выращивались на модифицированной среде Reica. Состав среды следующий: физиологический раствор — 360 мл, мясопептонный бульон — 50 мл и сыворотка крупного рогатого скота — 40 мл.

Гиалуронидазу определяли методом Мак Клина в модификации Могилевского. Эта методика определения активности гиалуронидазы основана на способности гиалуроновой кислоты в соединении с белками образовывать при подкислении характерный сгусток. Отсутствие сгустка или разрушение его при легком встряхивании указывает на наличие в среде гиалуронидазы. Гиалуроновою кислоту готовили по методу Мак Клина и Хейл (Mac Clin a. Neil, 1941) путем экстрагирования ее из пупочных канатиков новорожденных.

Кроме того, активность гиалуронидазы определяли также и вискозиметрическим методом. Для опыта применяли пробы нативных и концентрированных культуральных жидкостей. В нативных пробах культуральных жидкостей гиалуронидаза определялась в динамике через 12—24—32—72 часа после посева. Культуральную жидкость концентрировали методом лиофильной сушки. Полученный лиофильный сухой препарат растворяли в малом объеме физиологического раствора и определяли активность гиалуронидазы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основные результаты исследований представлены в таблице.

Результаты определения активности гиалуронидазы у штаммов *E. histolytica* муциновым методом

№ штаммов	Дата выделения	Дата исследования	Активность гиалуронидазы в нативных культуральных жидкостях, выраженная в условных единицах		Активность гиалуронидазы в концентрированных культурах, выраженная в условных единицах	
			первоначальная	через 7 мес.	первоначальная	через 7 мес.
Выделенные от больных амебиазом	20-й	17 X 1968	+	+	256	128
	4155-й	7 III 1969	—	—	32	8
	48-й	17 X 1968	—	—	128	64
	10-й	29 XII 1968	—	—	64	32
	24-й	3 V 1967	—	—	8	4
Выделенные от здоровых носителей	480-й	14 X 1968	—	—	128	16
	267-й	3 III 1969	—	—	32	8
	548-й	29 II 1968	—	—	32	4
	50-й	3 X 1968	—	—	16	8
	15-й	12 X 1968	—	—	8	4

Из таблицы видно, что при исследовании нативных (не концентрированных) культуральных жидкостей гиалуронидаза была обнаружена только у одного штамма, выделенного от больного амебиазом. Максимальная активность обнаружена на вторые сутки (48 час.), когда число амеб достигало максимума. При исследовании остальных 8 нативных

не концентрированных культуральных жидкостей был получен отрицательный результат.

В концентрированных же пробах культуральной жидкости всех этих штаммов *E. histolytica* была обнаружена гиалуронидаза, в том числе и у тех штаммов, которые культивируются долгое время в лаборатории.

Определение гиалуронидазы производилось повторно в тех же культурах через 7 месяцев. В этих случаях гиалуронидаза по-прежнему была обнаружена во всех культурах, но активность ее понизилась. Одновременно производился высев бактерий, сопутствующих амебам в культурах на питательную среду. Микробные взвеси концентрировали методом лиофильной сушки и в них определяли активность гиалуронидазы. Однако в этих случаях гиалуронидаза не была обнаружена.

Таким образом, полученные данные показывают, что в культурах *E. histolytica*, выделенных от больных и носителей, содержится фактор, обладающий характерными свойствами фермента гиалуронидазы.

### Литература

- Мизгирева М. Ф. и Глейберман С. Е. 1963. Фермент гиалуронидаза в культурах *E. histolytica*. Изв. АН ТуркмССР, 66 : 34—40.
- J a r u m i l i n t a K. and M a e g r o i t h B. G. 1961. The patterns of some proteolytic enzymes of *E. histolytica* and *Acanthamoeba* sp. I. The action of *E. histolytica* and *Acanthamoeba* sp. on protein substrates. Ann. Trop. Med. a. Parasitol., 4 (55) : 505—517.
- D e L a m a t e r, M i c h a e l s o n I. N., H a l l m a n F. A. and B l u m e n t h a l H. 1954. An investigation into hyaluronidase as a factor in the mechanism of tissue invasion by *E. histolytica*. Amer. J. Trop. Med. and Hyg., 3 : 1—8.
- B r a d i n J. L. 1953. Studies on the production of hyaluronidase by *E. histolytica*. Exp. Parasitol., 2 : 230—235.
- N e a l R. A. 1960. Enzyme proteolysis in *E. histolytica*, biochemical characteristics and relationship with invasiveness. Parasitol., 50 : 531—550.
- M a c C l e a n D. and H a l e C. W. 1941. Studies on diffusing factors the hyaluronidase activity of testicular extracts, bacterial culture filtrates and other agents that increase tissue permeability. Biochem. J., 35 : 159—162.

---

### COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF HYALURONIDASE ACTIVITY OF DIFFERENT STRAINS OF ENTAMOEBA HISTOLYTICA

S. T. Ailjarova

### S U M M A R Y

The hyaluronidase activity of ten strains of *Entamoeba histolytica* isolated from sick persons and carriers was investigated. In determining ferment by the mucin method hyaluronidase activity is revealed only through the analysis of concentrated samples. Long laboratory cultivation did not cause the loss of hyaluronidase but only reduced its activity. Hyaluronidase in the strains of *E. histolytica* is produced by amoebae themselves and its formation does not depend on the associated microflora.

---